

肿瘤浸润性自然杀伤细胞在免疫治疗中的研究进展

许 薇¹, 王 亮², 莫安薇¹, 黄琰菁¹

基金项目: 海南省自然科学基金课题(编号:819MS117); 海南省高等学校科学研究项目(编号:Hnky2023-34)

作者单位: 1. 海南省人民医院(海南医学院附属海南医院)肿瘤内科,海口 570311; 2. 海南省人民医院(海南医学院附属海南医院)胃肠外科,海口 570311

第一作者: 许 薇,在读硕士研究生,研究方向:恶性肿瘤精准治疗。E-mail:2932325921@qq.com

通信作者: 黄琰菁,医学博士,主任医师,研究方向:恶性肿瘤精准治疗。E-mail:yanjinghuang@hainmc.edu.cn

[摘要] 自然杀伤(NK)细胞是一种具有强大细胞毒性和活性的先天淋巴细胞。基于 NK 细胞的免疫疗法在血液系统肿瘤的治疗中取得显著疗效,但在实体恶性肿瘤的治疗中疗效较低。该文就 NK 细胞的功能、表型及其肿瘤免疫治疗的研究进展作一综述。

[关键词] 自然杀伤细胞; 免疫疗法; 肿瘤

[中图分类号] R 73 [文献标识码] A [文章编号] 1674-3806(2024)03-0343-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2024.03.20

Research progress of tumor-infiltrating natural killer cells in immunotherapy XU Wei¹, WANG Liang², MO Anwei¹, HUANG Yanjing¹. 1. Department of Internal Medicine-Oncology, Hainan General Hospital(Hainan Affiliated Hospital of Hainan Medical University), Haikou 570311, China; 2. Department of Gastrointestinal Surgery, Hainan General Hospital(Hainan Affiliated Hospital of Hainan Medical University), Haikou 570311, China

[Abstract] Natural killer(NK) cells are innate lymphocytes with strong cytotoxicity and activity. NK cell-based immunotherapy has achieved significant efficacy in the treatment of hematological tumors, but has achieved lower efficacy in the treatment of solid malignant tumors. In this paper, the function and phenotype of NK cells, and the research progress of NK cells in tumor immunotherapy are reviewed.

[Key words] Natural killer(NK) cell; Immunotherapy; Tumor

肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)指肿瘤细胞生存的局部环境,是一种复杂的动态环境,与肿瘤细胞增殖、转移和免疫逃逸等紧密相关。TME是实体瘤发生、发展的条件,也是机体抵御肿瘤的关键地方。TME中的肿瘤浸润性自然杀伤(natural killer, NK)细胞比其他淋巴免疫细胞具有更强大的细胞毒性作用和免疫调节能力,能够在没有抗原呈递的情况下快速发挥抗肿瘤活性,在抗肿瘤免疫中起着重要作用。除此之外, NK 细胞分泌的细胞因子及颗粒蛋白能够杀伤靶细胞,尤其是肿瘤细胞。深入了解 TME 将会为癌症治疗找到新的途径和方法,基于功能更加强大的肿瘤浸润性 NK 细胞的研究有可能发掘出更高效的抗肿瘤治疗方案^[1]。本文就肿瘤浸润性 NK 细胞在免疫治疗中的研究进展作一综述。

1 肿瘤浸润性 NK 细胞的起源与表型

NK 细胞是一种大粒状免疫淋巴细胞,可分为 CD56^{dim}和 CD56^{bright} 2 个亚群。它是人体免疫的第

一道防线,约占血液中免疫细胞的 15%^[2]。当肿瘤发生时,部分外周 NK 细胞浸润至 TME,被称为肿瘤浸润性 NK 细胞。肿瘤浸润性 NK 细胞在 TME 中约占总淋巴细胞的 5%^[3]。不同免疫器官中的 NK 细胞来源不同,其表型也不同,这使得转移至不同肿瘤的肿瘤浸润性 NK 细胞的表型也不同。在骨髓中, NK 细胞主要来源于 CD34⁺造血干细胞^[4],主要为成熟的 CD56^{dim} NK 细胞^[5]。CD34^{dim}CD45RA⁺ β 7^{bright}造血前体细胞从骨髓中转移至淋巴结,在白介素-15、白介素-2 和活化 T 细胞的作用下分化为特异的 CD56^{bright} NK 细胞^[6-7]。NK 细胞成熟过程主要分为 4 期:在 I 期中, CD34^{dim} CD45RA⁺ β 7^{bright}造血前体细胞分化为 CD10⁺ β 7⁺ CD34⁺ CD117⁻ CD94⁻ HLA-DR⁺ CD56⁺ NK 细胞;在 II 期中,进一步分化成 CD10⁺ β 7⁺ CD34⁺ CD117⁺ CD94⁻ HLA-DR⁺ CD56⁺ NK 细胞;在 III 期中,再进一步分化成 CD10⁻ β 7⁻ CD34⁻ CD117⁺ CD94⁻ HLA-DR⁻ CD56⁺ NK 细胞;在 IV 期中,继续分化成

CD10⁻β7⁻CD34⁻CD117⁺CD94⁺HLA-DR⁻CD56⁺ NK 细胞^[8]。但其在淋巴结的分化过程中的具体细节仍未被研究透彻。不同亚群的 NK 细胞的分化成熟程度差异较大。CD56^{dim} NK 细胞主要在骨髓中产生,而 CD56^{bright} NK 细胞主要在淋巴结中发育成熟。在免疫器官中发育成熟的 NK 细胞会被趋化因子吸引至 TME 中变成肿瘤浸润性 NK 细胞^[9]。不同实体瘤的肿瘤浸润性 NK 细胞的表型不同:在黑色素瘤中为 CD56^{dim}CD57^{dim}CD69⁺CCR7⁺KIR⁺ 肿瘤浸润性 NK 细胞;在肾癌中为 CD16^{bright}CD56^{dim} 肿瘤浸润性 NK 细胞;在前列腺癌中为未成熟的 CD56^{bright} 肿瘤浸润性 NK 细胞^[10-13]。出现这种现象的原因,可能与肿瘤细胞的代谢能力、免疫逃逸能力等不同特性有关。深入了解不同表型肿瘤浸润性 NK 细胞的功能,改变免疫微环境里的免疫细胞组成可能是提高免疫疗效的重要方法。

2 肿瘤浸润性 NK 细胞的功能

肿瘤浸润性 NK 细胞可通过分泌含有穿孔素和颗粒酶 B 的细胞毒性颗粒、分泌促炎细胞因子和表达死亡配体等方式发挥抗肿瘤效应^[14]。不同亚群的 NK 细胞的功能也不相同。CD56^{bright} NK 细胞能产生丰富的促炎细胞因子;而 CD56^{dim} NK 细胞能分泌大量的细胞毒性颗粒,具有较强的溶解细胞能力^[15]。

2.1 分泌细胞毒性颗粒 穿孔素和颗粒酶是 NK 细胞分泌的细胞毒性颗粒的重要组成部分,是一种小分子细胞毒性蛋白质,在 NK 细胞发挥抗肿瘤效应中起着重要作用。在 TME 中受外来抗原刺激的 NK 细胞会产生大量的穿孔素和颗粒酶家族分子^[16]。人体内存在 5 种颗粒酶:颗粒酶 A、颗粒酶 B、颗粒酶 H、颗粒酶 K 和颗粒酶 M。肿瘤浸润性 NK 细胞分泌穿孔素在靶向肿瘤细胞膜上产生孔,使得颗粒酶 B 能够进入细胞内。颗粒酶 B 进入靶细胞后可通过多种途径促进肿瘤细胞凋亡:(1)直接切割半胱天冬酶,破坏靶细胞 DNA 和细胞骨架,导致靶细胞发生凋亡。(2)触发靶细胞线粒体凋亡途径,导致线粒体外膜透化^[17]。总之,通过增加 CD56^{dim} NK 细胞的数量可能使具有较强抗肿瘤作用的细胞毒性颗粒增多来提高抗肿瘤的效果。

2.2 分泌促炎细胞因子 肿瘤浸润性 NK 细胞分泌的促炎细胞因子主要为 γ-干扰素(interferon-gamma, IFN-γ)和肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α),IFN-γ 和 TNF-α 都属于多效性细胞因子,均具有促癌和抗癌作用。在 TME 中的 IFN-γ 主要由肿瘤浸润性 NK 细胞产生。研究表明,IFN-γ 通过增加主要组织相容性复合物 I 类蛋白和 II 类蛋白的表达,上

调肿瘤细胞表面程序性死亡配体 1、IFN-γ-FN1 抑制通路等方式增加肿瘤细胞被免疫细胞识别的风险,从而增加抗肿瘤效果^[18]。也有研究认为,IFN-γ 可通过诱导趋化因子[C-X-C 基序趋化因子配体 9(C-X-C motif chemokine ligand 9, CXCL9)、CXCL10]的产生,将外周 NK 细胞吸引至 TME 中,间接发挥抗肿瘤作用^[19]。在促癌方面,持续的干扰素受体信号转导会使免疫细胞产生耐受性,降低免疫应答的能力,从而发挥促癌作用^[20]。另外,IFN-γ 可以通过增加 TME 中的血管生成、上调免疫抑制因子、抑制免疫效应细胞来发挥作用^[21]。TME 中的 TNF 大部分由巨噬细胞分泌,其余部分由淋巴细胞和肿瘤细胞产生。TNF-α 的生物学活性占 TNF 家族总活性的 70%~95%,是主要效应因子。TNF-α 被认为是一种有效的促炎细胞因子,主要通过 2 种 TNF 受体(I 型、II 型)发挥抗癌和促癌的双重作用^[22]。有研究证实,I 型 TNF 受体存在于所有细胞表面,II 型 TNF 受体仅存在于免疫细胞表面^[23]。I 型 TNF 受体主要参与抗肿瘤作用。当 TNF-α 与 I 型 TNF 受体结合后会激活 caspase-8 和混合谱系激酶结构域样蛋白,从而诱导肿瘤细胞凋亡及血管内皮细胞坏死^[24]。相反,II 型 TNF 受体主要促进肿瘤的发生和转移。TNF-α 与 II 型 TNF 受体通过促进肿瘤血管的形成、诱导调节性 T 细胞的增殖和活化、激活核因子 κB 损伤的 DNA 等方式发挥促癌作用^[25]。由此可见,CD56^{bright} NK 细胞能产生丰富的促炎细胞因子 IFN-γ 和 TNF-α 从而发挥抗癌和促癌双重作用,通过调控 CD56^{bright} NK 细胞的数量来提高抗癌疗效具有较大的不确定性。

2.3 表达死亡配体 肿瘤浸润性 NK 细胞通过表达肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体[tumor necrosis factor(TNF)-related apoptosis-inducing ligand, TRAIL]和 Fas 配体(Fas ligand, FasL)诱导肿瘤细胞凋亡。TRAIL 和 FasL 在多种免疫细胞表面表达,死亡受体和 Fas 在肿瘤细胞表面数量高于正常组织细胞^[26]。这种差异性分布使得 TRAIL 和 FasL 能特异性地针对肿瘤细胞,避免损伤正常细胞。TRAIL 是一种 II 型跨膜蛋白,可与多种死亡受体结合,主要通过结合含有死亡结构域(death domain, DD)的死亡受体 TRAIL-R1 和 TRAIL-R2 诱导细胞凋亡。在 I 型细胞中,TRAIL 与 TRAIL-R1 和 TRAIL-R2 结合,导致死亡受体的 DD 结构发生改变,DD 与细胞内适配器分子 Fas 相关 DD、半胱天冬酶-8 和半胱天冬酶-10 结合形成死亡诱导信号复合物后激活底物半胱天冬酶-8 和半胱天冬酶-10,将其释放至细胞质内,进一步激活半胱天冬

酶-3、半胱天冬酶-6 和半胱天冬酶-7,最终导致细胞凋亡^[27-28]。在 II 型细胞内,X 连锁凋亡抑制剂抑制了半胱天冬酶-3、半胱天冬酶-6 和半胱天冬酶-7 的激活^[26]。活化的半胱天冬酶-8 将 Bid(BH3 相互作用结构域死亡激动剂)切割成小段,小段 Bid 导致线粒体外膜透化并产生细胞色素 c,细胞色素 c 与凋亡蛋白酶激活因子形成细胞凋亡复合物,细胞凋亡复合物在细胞质中激活半胱天冬酶原-9 等,最终获得足够的半胱天冬酶-3、半胱天冬酶-6 和半胱天冬酶-7 启动细胞凋亡程序^[29-30]。FasL 也是一种 II 型跨膜蛋白,与肿瘤细胞表面的 Fas 结合,在肿瘤免疫监视中起重要作用。肿瘤浸润性 NK 细胞表面的 FasL 与靶细胞表面的 Fas 结合后,通过外在凋亡途径导致细胞凋亡^[31]。

2.4 介导抗体依赖性细胞毒性(antibody dependent cell-mediated cytotoxicity,ADCC)途径 ADCC 的 3 个重要组成部分为抗体、靶细胞和 NK 细胞。ADCC 是 NK 细胞介导的杀伤肿瘤细胞的另一种关键机制,对于调控肿瘤进展具有重要作用。NK 细胞是发挥 ADCC 作用的主要免疫细胞类型。抗体的 Fab 段与肿瘤细胞结合后,其 Fc 段与 NK 细胞表面的 FcR 结合,然后启动 NK 细胞内信号转导,促使 NK 细胞释放细胞内容物,通过 TRAIL 和 Fas 途径诱导肿瘤细胞凋亡,实现特异性靶向杀伤^[32]。NK 细胞介导的 ADCC 是治疗恶性肿瘤的重要机制,对于调控肿瘤进展具有重要作用。NK 细胞介导的 ADCC 为治疗恶性肿瘤提供了新的机会。

3 基于 NK 细胞的免疫疗法

肿瘤免疫疗法通过调控免疫系统杀伤肿瘤细胞,多种恶性肿瘤的治疗中显示出潜力。为了增强 NK 细胞对实体瘤的杀伤性,通过引入人工合成的嵌合抗原受体(chimeric antigen-receptor,CAR),一定程度上增强了 NK 细胞的抗肿瘤能力,过继性免疫细胞疗法中的 CAR-NK 细胞疗法由此诞生。该疗法在多项恶性肿瘤的临床试验中受到关注:表达因子受体(epidermal growth factor receptor,EGFR)-CAR NK-92 细胞可用于治疗转移性乳腺癌;ErbB2/HER2-CAR NK 细胞的抗肿瘤活性显著增强,可用于治疗各种 ErbB2 阳性的恶性肿瘤;携带靶向 EGFRv III 的 CAR-NK 细胞可通过细胞凋亡抑制胶质母细胞瘤的生长;编码上皮细胞黏附分子(epithelial cell adhesion molecule,EpCAM)的 CAR-NK 细胞可对特定的乳腺癌表现出高选择性的细胞杀伤活性等^[33]。CAR-NK 细胞疗法由表达表面受体的基因工程 NK 细胞组成,该受体特

异性地靶向表达在肿瘤细胞表面的抗原。不同来源的 NK 细胞有不同的表型,最终的疗效也不一样:脐带血的 NK 细胞表达低 CD16、CD56、NKG2A 和低 KIR,增殖能力强并对细胞因子刺激非常敏感;外周血的 NK 细胞主要表达 CD56^{dim},增殖能力较弱且制备过程复杂;诱导多能干细胞的 NK 细胞表达低 CD16、高 NKG2A 和低 KIR,增殖能力强但细胞毒性弱^[34]。CAR 的嵌入使得 NK 细胞在杀死肿瘤细胞方面具有选择性和高效性。CAR-NK 细胞具有 CAR 依赖和 CAR 独立靶向能力,能够降低肿瘤逃避风险^[35]。基于 NK 细胞的 CAR-NK 细胞免疫疗法是一种非常有前景的癌症治疗方法,可以显著提高肿瘤浸润性 NK 细胞的抗肿瘤能力,并且不同表面受体的嵌入使该免疫疗法在杀死肿瘤细胞方面具有选择性和高效性。未来还需大量的研究来证明其疗效和安全性。

4 结语

NK 细胞在肿瘤治疗中起着重要作用,基于 NK 细胞的免疫疗法能够治疗难治性恶性肿瘤。经过基因工程改造产出不同的 CAR-NK 细胞能够对不同的实体瘤产生效应,这些效应大部分具有特异性,尽管目前尚未广泛应用于临床,但其在实体瘤的治疗中较有潜质。肿瘤浸润性 NK 细胞的表型与功能密切相关,通过添加或减少某个特定表型的表达可以使得其具有不同的功能,编码不同嵌合受体的 NK 细胞能够针对不同的肿瘤,CD56 的表达也可影响其主要分泌物的种类。因此,明确肿瘤浸润性 NK 细胞的表型与功能有助于开发新型高效的基于 NK 细胞的免疫疗法,未来仍需要大量的研究验证。NK 细胞是肿瘤免疫治疗的新靶点,但仍需要进一步了解如何更好地进行调控。

参考文献

- [1] 郭光然,张兰军.非小细胞肺癌的免疫微环境与免疫治疗[J].中国临床新医学,2022,15(3):193-197.
- [2] Liu S, Galat V, Galat Y, et al. NK cell-based cancer immunotherapy: from basic biology to clinical development[J]. J Hematol Oncol, 2021, 14(1):7.
- [3] Nelson MA, Ngamcherdtrakul W, Luoh SW, et al. Prognostic and therapeutic role of tumor-infiltrating lymphocyte subtypes in breast cancer [J]. Cancer Metastasis Rev, 2021,40(2):519-536.
- [4] Chu J, Gao F, Yan M, et al. Natural killer cells: a promising immunotherapy for cancer[J]. J Transl Med, 2022,20(1):240.
- [5] Bi J, Wang X. Molecular regulation of NK cell maturation[J]. Front Immunol, 2020,11:1945.
- [6] Freud AG, Becknell B, Roychowdhury S, et al. A human CD34⁺ subset resides in lymph nodes and differentiates into CD56^{bright} natural killer cells[J]. Immunity, 2005,22(3):295-304.

- [7] von Andrian UH, Mempel TR. Homing and cellular traffic in lymph nodes[J]. *Nat Rev Immunol*, 2003,3(11):867–878.
- [8] Freud AG, Yokohama A, Becknell B, et al. Evidence for discrete stages of human natural killer cell differentiation in vivo[J]. *J Exp Med*, 2006,203(4):1033–1043.
- [9] Galy A, Travis M, Cen D, et al. Human T, B, natural killer, and dendritic cells arise from a common bone marrow progenitor cell subset[J]. *Immunity*, 1995,3(4):459–473.
- [10] Schleyen JS, Baur N, Kammerer R, et al. Cytotoxic markers and frequency predict functional capacity of natural killer cells infiltrating renal cell carcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2006,12(3 Pt 1):718–725.
- [11] Ali TH, Pisanti S, Ciaglia E, et al. Enrichment of CD56^{dim}KIR + CD57 + highly cytotoxic NK cells in tumour infiltrated lymph nodes of melanoma patients[J]. *Nat Commun*, 2014,5:5639.
- [12] Schleyen JS, Von Geldern M, Weiss EH, et al. Renal cell carcinoma-infiltrating natural killer cells express differential repertoires of activating and inhibitory receptors and are inhibited by specific HLA class I allotypes[J]. *Int J Cancer*, 2003,106(6):905–912.
- [13] Pasero C, Gravis G, Guerin M, et al. Inherent and tumor-driven immune tolerance in the prostate microenvironment impairs natural killer cell antitumor activity[J]. *Cancer Res*, 2016,76(8):2153–2165.
- [14] Tong L, Jiménez-Cortegana C, Tay AHM. NK cells and solid tumors: therapeutic potential and persisting obstacles[J]. *Mol Cancer*, 2022,21(1):206.
- [15] Myers JA, Miller JS. Exploring the NK cell platform for cancer immunotherapy[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2021,18(2):85–100.
- [16] Wu SY, Fu T, Jiang YZ, et al. Natural killer cells in cancer biology and therapy[J]. *Mol Cancer*, 2020,19(1):120.
- [17] Sutton VR, Davis JE, Cancilla M, et al. Initiation of apoptosis by granzyme B requires direct cleavage of bid, but not direct granzyme B-mediated caspase activation[J]. *J Exp Med*, 2000,192(10):1403–1414.
- [18] Alspach E, Lussier DM, Schreiber RD. Interferon γ and its important roles in promoting and inhibiting spontaneous and therapeutic cancer immunity[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2019,11(3):a028480.
- [19] Castro F, Cardoso AP, Gonçalves RM, et al. Interferon-gamma at the crossroads of tumor immune surveillance or evasion[J]. *Front Immunol*, 2018,9:847.
- [20] Fenton SE, Saleiro D, Platanias LC. Type I and II interferons in the anti-tumor immune response[J]. *Cancers(Basel)*, 2021,13(5):1037.
- [21] Angelicola S, Ruzzi F, Landuzzi L, et al. IFN- γ and CD38 in hyperprogressive cancer development[J]. *Cancers(Basel)*, 2021,13(2):309.
- [22] Dash S, Sahu AK, Srivastava A, et al. Exploring the extensive crosstalk between the antagonistic cytokines- TGF- β and TNF- α in regulating cancer pathogenesis[J]. *Cytokine*, 2021,138:155348.
- [23] Laha D, Grant R, Mishra P, et al. The role of tumor necrosis factor in manipulating the immunological response of tumor microenvironment[J]. *Front Immunol*, 2021,12:656908.
- [24] Jang DI, Lee AH, Shin HY, et al. The role of tumor necrosis factor alpha(TNF- α) in autoimmune disease and current TNF- α inhibitors in therapeutics[J]. *Int J Mol Sci*, 2021,22(5):2719.
- [25] Takahashi H, Yoshimatsu G, Faustman DL. The roles of TNFR2 signaling in cancer cells and the tumor microenvironment and the potency of TNFR2 targeted therapy[J]. *Cells*, 2022,11(12):1952.
- [26] Alizadeh Zeinabad H, Szegezdi E. TRAIL in the treatment of cancer: from soluble cytokine to nanosystems[J]. *Cancers(Basel)*, 2022,14(20):5125.
- [27] Di Cristofano F, George A, Tajiknia V, et al. Therapeutic targeting of TRAIL death receptors[J]. *Biochem Soc Trans*, 2023,51(1):57–70.
- [28] Rambow AC, Aschenbach I, Hagelund S, et al. Endogenous TRAIL-R4 critically impacts apoptotic and non-apoptotic TRAIL-induced signaling in cancer cells[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2022,10:942718.
- [29] Montinaro A, Walczak H. Harnessing TRAIL-induced cell death for cancer therapy: a long walk with thrilling discoveries[J]. *Cell Death Differ*, 2023,30(2):237–249.
- [30] Thapa B, Kc R, Uludağ H. TRAIL therapy and prospective developments for cancer treatment[J]. *J Control Release*, 2020,326:335–349.
- [31] Xiang SY, Ye Y, Yang Q, et al. RvD1 accelerates the resolution of inflammation by promoting apoptosis of the recruited macrophages via the ALX/FasL-FasR/caspase-3 signaling pathway[J]. *Cell Death Discov*, 2021,7(1):339.
- [32] Chin DS, Lim CSY, Nordin F, et al. Antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity through natural killer(NK) cells: unlocking NK cells for future immunotherapy[J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2022,23(4):552–578.
- [33] Melaiu O, Lucarini V, Cifaldi L, et al. Influence of the tumor microenvironment on NK cell function in solid tumors[J]. *Front Immunol*, 2020,10:3038.
- [34] Sabbah M, Jondreville L, Lacan C, et al. CAR-NK cells: a chimeric hope or a promising therapy? [J]. *Cancers(Basel)*, 2022,14(15):3839.
- [35] Pang Z, Wang Z, Li F, et al. Current progress of CAR-NK therapy in cancer treatment[J]. *Cancers(Basel)*, 2022,14(17):4318.

[收稿日期 2023-12-05][本文编辑 韦颖]

本文引用格式

许薇,王亮,莫安薇,等. 肿瘤浸润性自然杀伤细胞在免疫治疗中的研究进展[J]. 中国临床新医学,2024,17(3):343–346.